

Ćwiczenie 7 i 8

Chemia węglowodanów

Zagadnienia teoretyczne

- Budowa cukrów prostych. Wzory Fischera i Hawortha.
- Rodzaje izomerów (enancjomery, diastereoizomery, anomery).
- Reakcje utleniania i redukcji charakterystyczne dla cukrów prostych.
- Skracanie i wydłużanie łańcucha w cząsteczce cukru (równania reakcji).
- Budowa cukrów złożonych i ich wzory.

1. WSTĘP

Słodki smak wielu produktów spożywczych warunkowany jest zawartością w nich cukrów, w tym sacharozy. Poza walorami smakowymi sacharoza pełni funkcję wypełniacza nadającego strukturę produktom spożywczym, m.in. kształtuje odpowiednią lepkość, uczestniczy w procesie żelowania, a dodatkowo może konserwować produkt. Jej powszechność w diecie wiąże się jednak z nadmiernym spożyciem cukrów, co przyczynia się do wzrostu zagrożenia chorobami układu sercowo-naczyniowego i sprzyja otyłości. Sacharoza, jako substancja pomocnicza wykorzystywana jest również w technologii postaci leku. Stosowana jest ona zarówno do produkcji tabletek prasowanych, jak i pastylek do ssania. Umożliwia nie tylko uformowanie postaci leku (funkcja wypełniająca i wiążąca), ale stanowi jednocześnie składnik maskujący niekorzystny smak substancji leczniczej (*corrigens*). W przypadku tabletek do ssania, wpływa na ich dużą twardość, a tym samym opóźnia proces rozpuszczania umożliwiając stopniowe uwalnianie substancji leczniczej w miejscu jej działania (jama ustna, gardło).

Bardzo ciekawą postacią leku są pastylki miękkie (typu „toffi”), które sporządzane są na gorąco z użyciem wody, sacharozy, glukozy, syropu skrobiowego, wosku pszczelego i tłuszczu utwardzonego. Składniki te ogrzewane są do temperatury powyżej 135°C, następnie masę się ochładza do 115°C i dodaje substancje lecznicze. Po ostudzeniu masy do 50°C formuje się kształt „batonu” i kroi się na mniejsze kostki. Pastylki twarde otrzymuje się na drodze sporządzania plastycznej masy cukrowej, po czym przenosi się ją do form i suszy.

Cukier można spotkać również w innych postaciach leku. Syrop z sacharozy wykorzystuje się do drażowania tabletek – a więc powlekania ich cukrową powłoczką. Sacharoza jest też często podstawowym składnikiem syropów (*sirupus simplex* – stężony roztwór sacharozy w wodzie). Bardzo duże ilości sacharozy zawierają też preparaty przeciw przeziębieniu w formie saszetek do rozpuszczenia (około 10 gramów). Produkty lecznicze zawierające duże ilości cukru nie są wskazane dla osób chorujących na cukrzycę lub z glukozogalaktozowym zespołem złego wchłaniania.

Poszukuje się więc bezpiecznych zamienników sacharozy. **Substancje słodzące**, takie jak aspartam, sacharyna i cyklammat są o wiele słodsze niż naturalne cukry, ale kwestionowano ich długoterminowe działanie. Żaden z tych trzech związków nie wykazuje jakiegokolwiek podobieństwa strukturalnego do węglowodanów. W przeciwieństwie do tradycyjnych cukrów, takich jak glukoza, fruktoza czy sacharoza, należą do związków, które zasadniczo nie mają właściwości odżywczej. Słodki smak jest bez wątpienia największym walorem substancji słodzących, dlatego też pełnią funkcję dodatków do żywności. Na szeroką skalę stosowane są w przemyśle piekarniczym i cukierniczym do wyrobu pieczywa, ciast i ciastek, w przemyśle mleczarskim oraz do produkcji napojów. Stosuje się je także jako substancje słodzące w produktach specjalnego przeznaczenia, tj. w suplementach diety dla diabetyków i sportowców oraz w lekarstwach.

Do powszechnie stosowanych substancji słodzących należą:

- a. sole acesulfamowe, aspartamowe, cyklaminiany, sacharyniany, (związki otrzymywane syntetycznie),
- b. sukraloza, (związek otrzymywany syntetycznie),
- c. ksylitol, (substancja pochodzenia naturalnego)
- d. taumatyna (substancja pochodzenia naturalnego)
- e. stewia (substancja pochodzenia naturalnego)

Główne kryteria wyboru konkretnego preparatu słodzącego stanowią:

- a. intensywność odczucia smaku słodkiego,
- b. brak negatywnego wpływu na zdrowie,
- c. rozpuszczalność w środowisku wodnym,
- d. dostępność,
- e. stabilność termiczna i chemiczna,
- f. koszty wytworzenia.

Istotnym czynnikiem wpływającym na wybór związków jest **różnorodność ich struktury chemicznej**. Obecność różnych grup funkcyjnych zawartych w cząsteczkach substancji intensywnie słodzących wpływa na możliwość syntezy związków o nowych właściwościach i zastosowaniu. Na uwagę zasługują słodkie ciecze jonowe – organiczne sole wykazujące m.in. aktywność przeciwdrobnoustrojową. Interesującym przykładem są ponadto związki będące prototypem przeciwnowotworowych leków nowej generacji, np. związki kompleksowe typu sacharynian-pallad(II) oraz liczne „słodkie” pochodne stanowiące inhibitory działania enzymów.

2. Struktura, właściwości i przykłady zastosowań syntetycznych substancji słodzących

Pierwszym związkiem stosowanym na skalę przemysłową była **sacharyna**. Jako jedna z lepiej przebadanych substancji intensywnie słodzących po wielu latach została uznana za nieszkodliwą dla człowieka w ponad 90 krajach świata, w tym w Unii Europejskiej i w Polsce. Sacharyna odznacza się intensywnością odczucia smaku słodkiego od 250 do nawet 500 razy większą od sacharozy, dzięki czemu możliwe jest obniżenie dawki substancji słodzącej wymaganej do osiągnięcia efektu smakowego. Jest wydalana z moczem w niezmienionej postaci. Dobrze nadaje się więc do maskowania niepożądanych smaków w produkcie spożywczym lub leku, nie zwiększając jego wartości energetycznej (0 kcal/g). Związek ten występuje w stałej, termicznie stabilnej postaci, jest słabo rozpuszczalny w wodzie, dlatego częściej wykorzystuje się jego sole: sodu, potasu i wapnia (0,67 g/ml).

Kolejną substancją intensywnie słodzącą jest **cyklaminian sodu**. Wśród syntetycznych substancji słodzących charakteryzuje się on jednak najniższą intensywnością odczucia smaku słodkiego. Wykazuje tylko 30 - 50 razy intensywniejsze odczucie słodkiego smaku niż sacharoza. Warto jednak podkreślić jego wysoką termostabilność przewyższającą pozostałe substancje słodzące. Jest częściowo wchłaniany przez organizm (ok. 40 %) i przypuszcza się, że jego metabolity mogą wykazywać działanie rakotwórcze. Dlatego też w wielu krajach jego stosowanie było zakazane.

Do grupy słodkich sulfonamidów należy **acesulfam-K**, stosowany przemysłowo w postaci soli potasu. Intensywność odczucia smaku słodkiego określa się na poziomie 150 - 200 w stosunku do sacharozy, dla której wartość ta wynosi 1. Acesulfam-K jest substancją krystaliczną, stabilną termicznie i bardzo dobrze rozpuszczalną w środowisku wodnym. Wywołuje on szybkie odczucie smaku słodkiego, które utrzymuje się nawet w środowisku kwaśnym, występującym w napojach. Jego właściwości słodzące maleją ze wzrostem stężenia w produkcie, dlatego też najczęściej sprzedawany jest w postaci mieszaniny z aspartamem, solami cyklaminianowymi lub sacharynianowymi.

Najpowszechniej stosowaną substancją słodzącą jest dipeptyd kwasu asparaginowego i fenyloalaniny – **aspartam**. Wykazuje on około 200 razy intensywniejszy smak słodki niż sacharoza, a produkcja roczna wynosi około 16 tys. ton. Mimo niskiej wartości energetycznej – 4 kcal/g oraz zdolności do wzmacniania innych smaków i aromatów cytrusowych brakuje mu cech idealnej substancji intensywnie słodzącej, m.in. dobrej rozpuszczalności w wodzie, trwałości termicznej i chemicznej. Z upływem czasu traci intensywność słodzenia, stąd jego trwałość wynosi do 6 miesięcy. Nie przeszkadza to jednak w jego stosowaniu w ponad 6000 różnego rodzaju produktach. Jest często stosowany jako zamiennik cukru w lekach.

WYKONANIE ĆWICZENIA

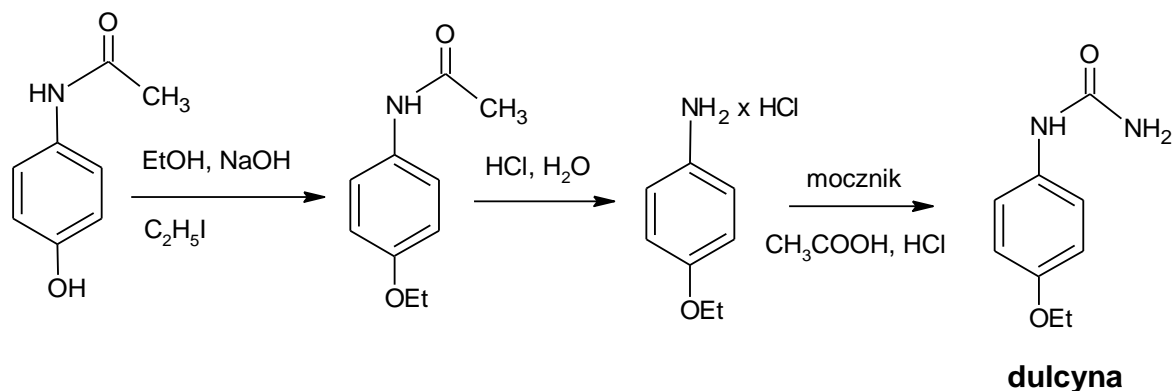
Cel: wykonanie syntezy wybranych związków z grupy węglowodanów i substancji słodzących oraz przeprowadzenie reakcji charakterystycznych pozwalających na wykrycie grup funkcyjnych obecnych w cząsteczkach przykładowych cukrów

ĆWICZENIE 1. Synteza dulcyny – substancji słodzącej

Cel: przeprowadzenie syntezy dulcyny - substancji nie należącej do węglowodanów ale wykazującej słodki smak i stosowanej jako sztuczny środek słodzący

Odczynniki:

- acetaminofen (paracetamol) 0,7 g
- etanol 5 ml
- NaOH 0,21g
- jodek etylu 0,7 ml
- HCl stęż. 4,5 ml
- mocznik 1,4g
- kwas octowy 0,5 ml



Etap I

W kolbie kulistej o poj. 50 ml umieścić 0,70 g acetaminofenu (paracetamolu – 2 tabletki). Dodać 5,25 ml 1M etanolowego roztworu NaOH. Ogrzewać w temp. wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 15 min. Po usunięciu czaszy grzejnej, do gorącego roztworu dodać 0,7 ml jodku etylu. Ponownie ogrzewać w temp. wrzenia przez 15 min. Następnie przesączyć gorący roztwór przez lejek Büchnera do kolby ssawkowej zawierającej mieszaninę wody z lodem. Wytrąconą w postaci białego

osadu fenacetynę odsączyć pod zmniejszonym ciśnieniem. Osad przemyć zimną wodą. Suszyć w suszarce w temp. 100°C przez 5-10 min.

Do kolby kulistej o poj. 50 ml zawierającej 1,64 g (9,2 mmola) fenacetyny dodać 8 ml roztworu HCl : H₂O (1:1). Całość ogrzewać w temp. wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 40 min. Następnie kolbę z mieszaniną reakcyjną chłodzić w łaźni lodowej i odsączyć wydzielony chlorowoderek *p*-fenetydyny. Osad suszyć na powietrzu.

Etap II

W kolbie kulistej umieścić: 1,0 g (5,8 mmola) chlorowodoru *p*-fenetydyny, 1,4 g (23,3 mmola) mocznika, 2,3 ml wody oraz 1 ml roztworu HCl: CH₃COOH (1:1). Całość ogrzewać w temp. wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 30 min. Po reakcji kolbę ochłodzić w łaźni lodowej i odsączyć pod zmniejszonym ciśnieniem wytrąconą dulcynę. Osad można przemyć schłodzoną wodą a następnie wysuszyć.

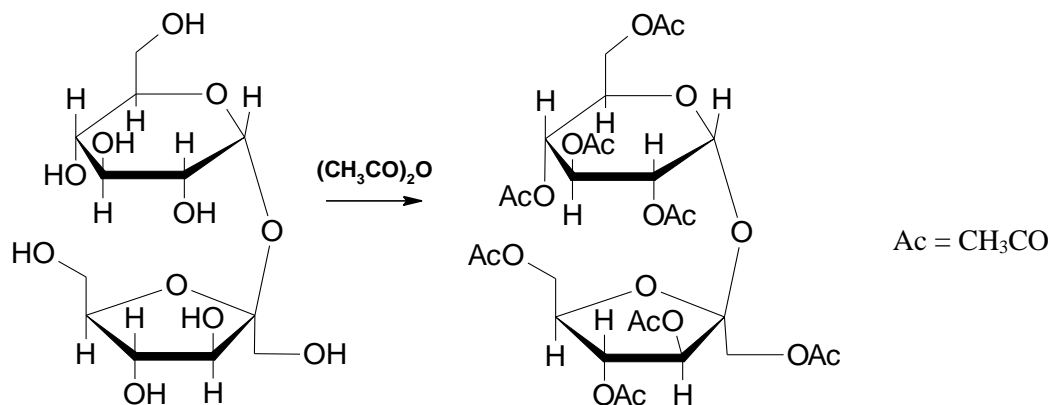
Obliczyć wydajność procesu syntezy.

ĆWICZENIE 2. Synteza oktaacetylosacharozy

Cel: Otrzymanie oktaacetylosacharozy, czyli gorzkiego cukru

Odczynniki:

- cukier rafinowany 2 g
- bezwodnik octowy 10 ml
- bezwodny octan sodu 1 g
- lód 100 g
- etanol i woda do krystalizacji



Wykonanie:

1. W kolbce okrągłodennej 50 ml umieścić bezwodnik octowy i octan sodu. Następnie dodać cukier i szybko nałożyć chłodnicę zwrotną (1).
2. Po zakończeniu reakcji egzotermicznej, zawartość kolby ogrzewać na czaszy grzejnej jeszcze 15 minut.
3. Mieszaninę poreakcyjną ochłodzić, wylać do zlewki zawierającej 100 g potłuczonego lodu i intensywnie mieszać do momentu rozpuszczenia się lodu (2).
4. Wodę zdekantować a surowy oleisty produkt krystalizować z etanolu z dodatkiem wody: rozpuszcza się najpierw osad w etanolu na gorąco, do gorącego roztworu dodać kroplami, mieszając, wodę, do momentu pojawienia się trwałego zmętnienia; kolbę ogrzewać do zaniku zmętnienia, potem znów dodać kilka kropelek wody i ponownie ogrzać. Po uzyskaniu trwałego zmętnienia, nie znikającego po ogrzaniu, kolbę pozostawić w temperaturze pokojowej. Związek powinien krystalizować (3).

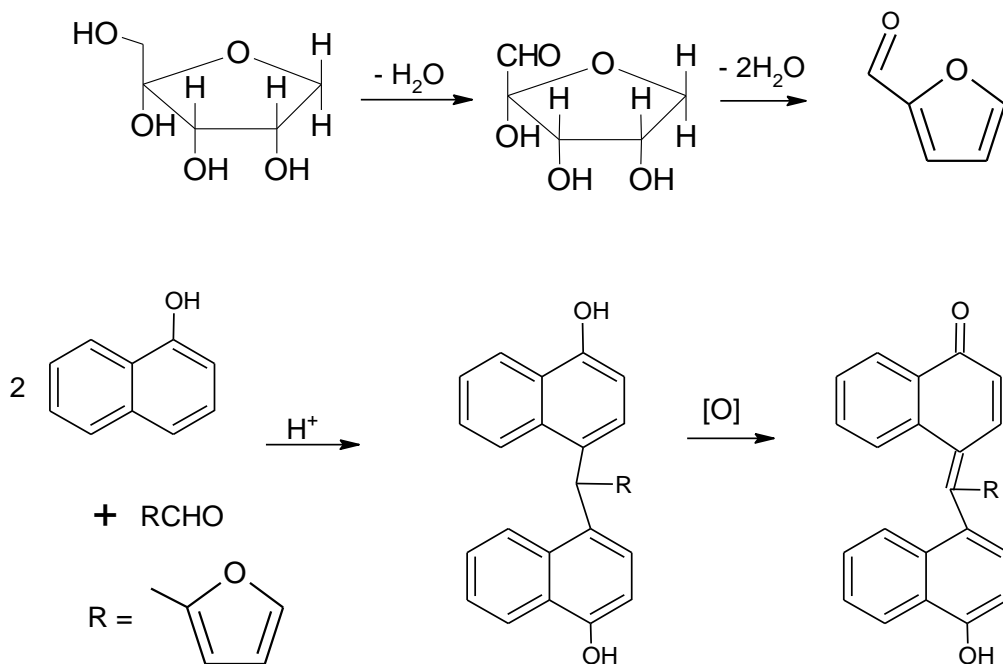
Uwagi:

- (1) Tuż po dodaniu cukru rozpoczyna się egzotermiczna reakcja.
- (2) Wydziela się oleisty produkt, niemieszający się z wodą, natomiast w wodzie rozpuszcza się, a raczej hydrolizuje, bezwodnik octowy, wydzielając przy tym ciepło, stąd potrzeba użycia tak dużej ilości lodu.
- (3) Jeżeli zamiast kryształów uporczywie wytrąca się olej, ogrzewa się kolbkę do rozpuszczenia się oleju i wstawia ją natychmiast do lodówki. Tam trzyma się tak długo, aż powstaną kryształy.

ĆWICZENIE 3. Wykrywanie cukrów prostych i złożonych

Cel: przeprowadzenie reakcji chemicznych, opartych na analizie jakościowej, których wyniki pozwolą wnioskować o obecności poszukiwanych grup funkcyjnych w badanej substancji

W warunkach kwasowych, aldopentozy i ketopentozy ulegają reakcji odwodnienia dając w rezultacie furfural. Produktem odwodnienia ketoheksos jest 5-hydroksymetylofurfural. Natomiast aldoheksosy ulegają reakcji dehydratacji powoli i również reakcja ta prowadzi do utworzenia 5-hydroksymetylofurfuralu. Obecność furfuralu i 5-hydroksymetylofurfuralu może zostać wykryta w reakcji z fenolem, ponieważ tworzą się barwne produkty kondensacji. Można użyć m.in. α -naftolu w teście Molischa, oreynolu w teście Biala i rezorcynolu w teście Seliwanowa.



Odczynniki:

- cukier prosty lub złożony (np.: ksyloza, arabinoza, galaktoza, fruktoza, laktoza, sacharoza, skrobia, glukoza) w postaci 1% roztworów wodnych
- odczynnik Benedicta
- odczynnik Biala
- odczynnik Seliwanowa
- odczynnik Molischa
- fenylohydrazyna (lub 2,4-dinitrofenylohydrazyna)

odczynnik Benedicta: 173 g krystalicznego **cytrynianu sodu** i 100 g **bezwodnego węglanu sodu** rozpuścić na gorąco w 600 ml wody; przesać, a do przesączu dodawać wolno, stale mieszając, 100 ml 17,3% roztworu **siarczanu (VI) miedzi (II)**; uzupełnić do 1 l wodą.

odczynnik Biala: w 100 ml **stężonego kwasu solnego** rozpuścić 0,5 g **orcyny** i dodać kilka kropel 10% roztworu **chlorku żelaza (III)**

odczynnik Seliwanowa: **stężony kwas solny** rozcieńczyć dwa razy wodą i rozpuścić w nim **rezorcynę** do uzyskania roztworu o stężeniu 0,05%

1. Test Molischa:

Wykonanie:

Umieścić 1 ml każdego z wymienionych 1% roztworów cukrów w 8 osobnych probówkach: ksylozę, arabinozę, glukozę, galaktozę, fruktozę, laktozę, sacharozę, skrobię. Dodać również 1 ml wody destylowanej do dziewiątej probówki, która służyć będzie jako próbka kontrolna. Do każdej probówki dodać dwie krople odczynnika Molischa i dobrze wymieszać. Następnie, przechylając delikatnie każdą probówkę, dodać ostrożnie 1 ml stęż. kwasu siarkowego, wlewając go po ściankach probówki. Warstwa kwasowa utworzy się w postaci pierścienia bliżej dna probówki.

Należy odnotować zabarwienie pierścienia w każdej z próbek. **Kolor purpurowy** wskazuje na pozytywny rezultat testu.

2. Test Biala na wykrywanie pentoz:

Test Biala jest przeprowadzany na **odróżnienie pentoz od heksoz**. Pentozy dają furfural w reakcji odwodnienia w warunkach kwasowych. Furfural reaguje z orcynolem i chlorkiem żelaza dając produkt kondensacji o zabarwieniu **niebiesko-zielonym**. Natomiast heksozy w analogicznych warunkach wytwarzają 5-hydroksymetylofurfural, który z orcynolem tworzy produkty o barwie **zielono-brązowej**.

Wykonanie:

Umieścić 1 ml każdego z wymienionych 1% roztworów cukrów w 8 osobnych probówkach: ksylozę, arabinozę, glukozę, galaktozę, fruktozę, laktozę, sacharozę, skrobię. Dodać również 1 ml wody destylowanej do dziewiątej probówki, która służyć będzie jako próbka kontrolna. Do każdej probówki należy dodać 1 ml odczynnika Biala. Ostrożnie podgrzać każdą probówkę we wrzącej łaźni wodnej. Zaobserwować i zanotować zabarwienie każdej próbki. Jeśli kolor jest trudny do określenia, można dodać 2,5 ml wody i 0,5 ml pentanolu do próbki. Wymieszać zawartość i sprawdzić ponownie barwę roztworu. Barwny produkt kondensacji będzie znajdował się w warstwie alkoholowej.

3. Test Seliwanowa

Wykonanie:

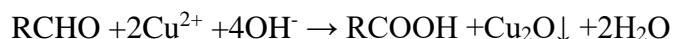
Umieścić 1 ml każdego z wymienionych 1% roztworów cukrów w 8 osobnych probówkach: ksylozę, arabinozę, glukozę, galaktozę, fruktozę, laktozę, sacharozę, skrobię. Dodać również 1 ml wody destylowanej do dziewiątej probówki, która służyć będzie jako próbka kontrolna. Dodać 2 ml odczynnika Seliwanowa do każdej z dziewięciu probówek. Wszystkie próbki umieścić we wrzącej łaźni wodnej na 1 minutę. Po tym czasie obserwować zmiany zabarwienia.

Ciemnoczerwone zabarwienie roztworu świadczy o pozytywnym rezultacie reakcji.

Testy bazujące na właściwościach redukujących cukrów

1. Test Benedicta

Metoda ta należy do najbardziej swoistych a zarazem najbardziej czułych prób redukcyjnych na obecność w cukrach grupy aldehydowej. W skład odczynnika wchodzi węgiel sodu oraz cytrynian sodu. W wyniku reakcji powstaje węgiel. Próba ta charakteryzuje się dość dużą czułością, ponieważ już 0,1% stężenie cukru redukującego w próbce powoduje zmianę barwy roztworu z niebieskiej na zieloną. **Zielona barwa** roztworu jest wynikiem reakcji pomiędzy pomarańczową zawiesiną Cu_2O i niebieskim odczynnikiem Benedicta.



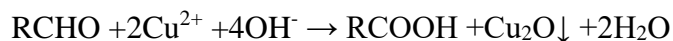
Wykonanie:

Umieścić 0,5 ml każdego z wymienionych 1% roztworów cukrów w 8 osobnych probówkach: ksylozę, arabinozę, glukozę, galaktozę, fruktozę, laktozę, sacharozę, skrobię. Dodać również 0,5 ml wody destylowanej do dziewiątej probówki, która służyć będzie jako próbka kontrolna. Do każdej z próbek należy dodać 2 ml odczynnika Benedicta. Wstawić do wrzącej łaźni wodnej na ok. 5 minut. Uformowanie się osadu: żółtego, pomarańczowego lub czerwonego wskazuje na obecność cukru redukującego w badanej próbce.

2. Test Barfoeda

Wykonanie:

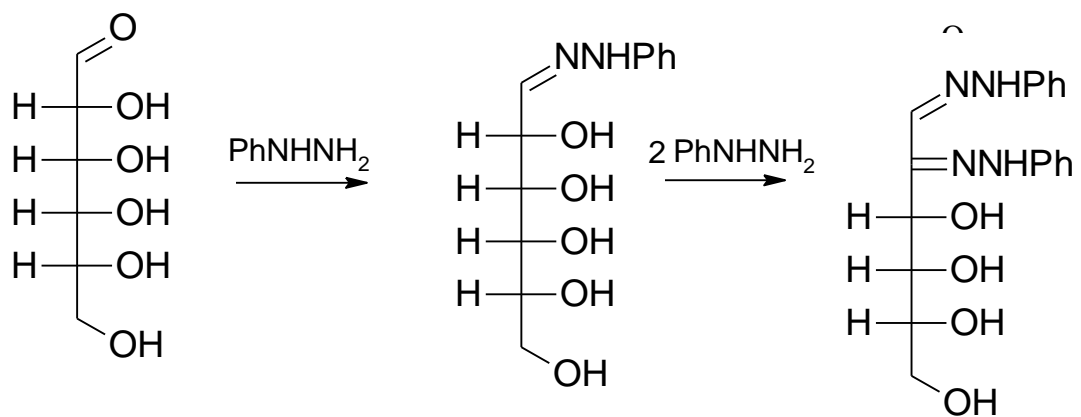
Umieścić 0,5 ml każdego z wymienionych 1% roztworów cukrów w 8 osobnych probówkach: ksylozę, arabinozę, glukozę, galaktozę, fruktozę, laktozę, sacharozę, skrobię. Dodać również 0,5 ml wody destylowanej do dziewiątej probówki, która służyć będzie jako próbka kontrolna. Do każdej z próbek należy dodać 2 ml odczynnika Barfoeda. Wstawić do wrzącej łaźni wodnej na ok. 10 minut. Uformowanie się **ceglastego osadu** wskazuje na obecność cukru redukującego w badanej próbce.



3. Tworzenie osazonów

Wykonanie:

Umieścić 0,5 ml każdego z wymienionych 10% roztworów cukrów w 8 osobnych probówkach: ksylozę, arabinozę, glukozę, galaktozę, fruktozę, laktozę, sacharozę, skrobię. Do każdej z próbek dodać 2 ml fenylhydrazyny. Umieścić wszystkie probówki we wrzącej łaźni wodnej. Pojawienie się **żółtego osadu** lub zmętnienie roztworu wskazuje na obecność cukru redukującego.



Reakcja tworzenia osazonów

Piśmiennictwo:

1. Wrzeciono U., Zaprutko L. Chemia związków naturalnych, Poznań, 2001